

THESIS

München

1966

Änderungen von Schwellenreizstromstärke und Zeitkonstante einzelner Skelettmuskelzellen unter dem Einfluß einer experimentellen Niereninsuffizienz (Untersuchungen am isolierten Rattenzwerchfell in vitro.)

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin verfaßt
und einer Hohen Medizinischen Fakultät,
der Ludwig-Maximilian-Universität zu München

vorgelegt von

Antke/Ronneberger

aus

Nürnberg

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
MEDICAL CENTER
STANFORD, CALIF. 94305

MÜNCHEN 1966

Aus der I. Medizinischen Klinik der UNIVERSITÄT MÜNCHEN
Direktor: Professor Dr. Herbert Schwiegk

Änderungen von Schwellenreizstromstärke und Zeitkonstante
einzelner Skelettmuskelzellen unter dem Einfluß einer
experimentellen Niereninsuffizienz
(Untersuchungen am isolierten Rattenzwerchfell in vitro.)

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilian-Universität zu München

vorgelegt von

Antke R o n n e b e r g e r
aus N ü r n b e r g

München 1966

*Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München*

Berichterstatter: Professor Dr. G. Riecker

Mitberichterstatter: Professor Dr. H. Schwiegk

Dekan: Professor Dr. M. Kiese

Tag der mündlichen Prüfung: 6. Dezember 1966

An dieser Stelle möchte ich meinem verehrten Lehrer,
Herrn Professor Dr. G. Riecker meinen aufrichtigen Dank
für die Überlassung des Themas und die Betreuung der
Arbeit aussprechen. Mein besonderer Dank gilt auch
Herrn Dr. H.D. Bolte für seine Unterstützung und wert-
volle Beratung und Frau E. Sonnenschein für ihre
technische Mithilfe.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154017_0185

Einleitung

Die Erregbarkeit der quergestreiften Muskelzelle, die Ionenleitfähigkeit, das Membranpotential, die Permeabilität und der Widerstand der Membran sind abhängig von einer Ionenordnung an der Zellgrenzfläche. Die physikalisch-chemischen Eigenschaften der Zellstruktur halten das Ionengleichgewicht an der Zellmembran aufrecht. Änderungen dieses Gleichgewichts, wie pH-Schwankungen, Bilanz- und Verteilungsstörungen des Elektrolythaushalts, Verminderung der Energiezufuhr durch Störungen im Substratstoffwechsel, verursachen daher Störungen der oben genannten elektrischen Eigenschaften der Zelle.

Das Membranpotential entsteht u.a. durch unterschiedliche Elektrolytkonzentrationen der gleichen Ionen auf beiden Seiten der Zellmembran.

Goldman (1943) hat die einzelnen Faktoren, die die intra-extrazelluläre Potentialdifferenz bestimmen, quantitativ zueinander in Beziehung gebracht.

Hodgkin und Katz (1949) modifizierten diese Goldman-Gleichung unter Berücksichtigung der relativen Permeabilitäten für die verschiedenen Ionenarten. Sie stellten folgende Gleichung auf:

$$E = \frac{R \cdot T}{F} \ln \frac{P_K [K^+]_i + P_{Na} [Na^+]_i + P_{Cl} [Cl^-]_a \dots}{P_K [K^+]_a + P_{Na} [Na^+]_a + P_{Cl} [Cl^-]_i \dots}$$

Das normale Ruhe-Membranpotential ist weitgehend von dem intra-extrazellulären Kaliumquotienten abhängig (Trautwein, Dudel (1958), Hodgkin, Horowicz (1959)). Eine Verminderung dieses Quotienten führt zu einer Depolarisation der Membran.

Neben den Elektrolytkonzentrationen hat nach obiger Gleichung die Permeabilität der Membran einen Einfluß auf die Höhe des intra-extrazellulären Potentialgefälles. Die Ionenleitfähigkeit der Membran oder die Permeabilität ist umgekehrt proportional dem Membranwiderstand. Dabei ist zu beachten, daß der Widerstand sich nur auf den Nettobetrag des Stromes bezieht, der

sich aus der algebraischen Summe der transportierten Ladungseinheiten von An- und Kationen in beiden Richtungen ergibt. So ändert sich der Membranwiderstand und das Membranpotential in umgekehrter Richtung wie die Kaliumpermeabilität. (Hodgkin 1951) Voraussetzung dafür ist, daß sich Membrankapazität und Membranfläche nicht ändern.

Renale Erkrankungen sind durch eine Erhöhung der Wasserstoffionenkonzentration in den Körperflüssigkeiten eine häufige Ursache für ionale Verteilungsstörungen. (Riecker 1963)

Die renale Acidose ist gekennzeichnet durch eine Verminderung der intra-extrazellulären Kaliumkonzentrationsdifferenz und eine Zunahme des Zellwassergehalts. Dies zeigt sich deutlich in den Untersuchungen an den roten Blutzellen von Riecker und v. Bubnoff (1961). An nephrektomierten Hunden wiesen Giebisch, Berger und Pitts (1955) eine Verschiebung von Natrium und Kalium aus dem gesamten Zellraum in die Extrazellulärflüssigkeit nach. Wie anfangs erwähnt, bewirkt eine Störung der intra-extrazellulären Ionenverteilung, wie sie bei der renalen Acidose beobachtet wurde, eine Änderung des elektrischen Potentialgefälles an der Zellmembran. Diese zu erwartende Depolarisation der Zellmembran wurde durch intrazelluläre Muskelpunktionsmessungen an 17 Patienten mit Niereninsuffizienz bestätigt. (Bolte, Riecker, Röhl 1963). Die Untersucher fanden eine Verminderung des Membranpotentials von $-87,2 \pm 5,2$ mV auf $-65,0 \pm 1,4$ mV. Bei allen Patienten lag der Rest-N über 100 mg%, bei 8 Patienten war die Serumkaliumkonzentration über 4,8 mval/l erhöht. Diese Befunde lassen sich jedoch nur zum Teil durch die Verminderung der intra-extrazellulären Kaliumkonzentrationsdifferenz erklären. Gessler und Caliebe (1961) haben an nephrektomierten Ratten eine Abnahme des intra-extrazellulären Kaliumkonzentrationsverhältnisses von 45,9 bei Normaltieren auf 20,7 bei Tieren im urämischen Zustand beobachtet. Daraus errechnet sich nach der Goldmangleichung ein Abfall des Potentials von 15 mV. Bei Ratten in vivo wurde von Koch (1964) ein Ruhepotential von 92,2 mV an gesunden Tieren und von Haugg (1964) ein Ruhepotential von 64,2 mV am urämischen Tier gemessen. Es besteht also eine Differenz von 13,8 mV zwischen dem errechneten Wert von

78 mV und dem gemessenen Wert von 64,2 mV, die nicht durch die Verminderung des intra-extrazellulären Kaliumquotienten erklärbar ist.

Röhl (1964) und Haugg (1964) haben weitere Faktoren, die eine Erniedrigung des Membranpotentials bei renaler Acidose bewirken könnten, am isolierten Rattenzwerchfell untersucht. Sie fanden keine signifikante Änderung des Membranpotentials bei Erhöhung der Harnstoff-, Kreatinin-, Milchsäurekonzentration und Erniedrigung der Kalzium- und Magnesiumkonzentration in der Badelösung.

Um Erregbarkeitsänderungen der Muskelzelle bei renaler Acidose zu untersuchen, haben wir in vorliegenden Untersuchungen die Zelle mit einer Mikroglaselektrode (Ling und Gerard) gereizt, und mit derselben Elektrode Potentialänderungen mit Hilfe einer Brückenschaltung, die von Araki und Otani (1955) angegeben wurde, abgeleitet. Unter Verwendung dieses Verfahrens haben wir Latenzzeiten gemessen (Latenzzeit = zeitlicher Abstand zwischen Reizbeginn und Erregungsbeginn) und sie zu den entsprechenden Stromstärken, die die Erregung bewirken, in Beziehung gesetzt. Wir erhielten so (1) Stromstärke/Latenzzeit-Kurven (strength-latency) und (2) Zeitkonstanten, die unter Anwendung eines speziellen zeichnerischen Auswerteverfahrens aus Stromstärken und Latenzzeiten ermittelt werden. Bei diesem Auswerteverfahren wird unterstellt, daß Rechteckströme durch die Zellmembran in ihrem Anstiegsverhalten im Sinne einer e-Funktion verändert werden durch kapazitive und ohmsche Eigenschaften der Zellmembran. Die von uns aus den Meßdaten Stromstärke und Latenzzeit ermittelte Zeitkonstante ist dem Membranwiderstand und der Membrankapazität proportional. ($\tau \sim R \cdot C$)

Durch viele Untersuchungen ist gut belegt, daß sich die erregbare Zelle wie ein elektrisches Kabel verhält, d. h. ein System von definierten Widerständen und Kapazitäten darstellt. (Hodgkin, Rushton (1946), Davis und Lorente de No (1947), Katz (1948), Weidmann (1952). Danach ist der Membranwiderstand unter Gleichgewichtsbedingungen ein ohmscher Widerstand, d. h. bei Depolarisation der Zelle bis zum Zusammenbruch des Potentials verhält sich der angelegte Reizstrom annähernd proportional zur Potentialänderung des Membranpotentials. Unter dieser Voraussetzung

haben wir den Widerstand aus dem Quotienten von Schwellenpotential und Schwellenstromstärke errechnet, den wir in Anlehnung an Schwellenpotential und Schwellenstromstärke Schwellenreizwiderstand nennen wollen. In diese Größe geht hauptsächlich der Membranwiderstand ein.

Die Untersuchungen wurden *in vitro* in einer physiologischen Lösung an Zwerchfellen von nephrektomierten und ureterligierten Ratten durchgeführt.

Meßanordnung zur Membranpotentialmessung und intrazellulären Reizung einzelner Muskelzellen.

Für unsere Messungen verwandten wir Mikroglaselektroden nach Ling und Gerard (1949). Es handelt sich dabei um Glasröhrchen, deren Spitze mit einem Elektrodenziehgerät auf einen Durchmesser von maximal $0,5\mu$ ausgezogen werden. Die Elektroden werden durch Heißluft (1 Stunde 180°) sterilisiert und unter sterilen Bedingungen über Methanol und aqua dest. mit 3 mol. KCL-Lösung gefüllt (Tasaki, Polley und Orego 1954). Die von uns verwandten Elektroden haben einen Widerstand von 2 bis $6\text{ M}\Omega$. Die Meßanordnung zur Messung des Membranpotentials ist bei Riecker, Bolte und v. Bubnoff (1963) angegeben. Die Potentialdifferenz wird durch das unpolarisierbare Elektrodenpaar Ling-Gerard-Elektrode/chlorierter Silberdraht (AgCl/Ag) abgegriffen. Im differentiellen Anteil sind Mikroelektrode, Kathodenfolger und Kathodenstrahloszillograph, der Erdbezug hat, angeordnet. Im indifferenten Teil befindet sich die in die Badeflüssigkeit eingebrachte AgCl/Ag -Bezugselektrode, die in 3 mol. KCL-Lösung taucht, und über ein Eich- und Kompensationsgerät mit Erde verbunden ist.

Der Kathodenfolger hat einen Eingangswiderstand von mindestens $1000\text{ M}\Omega$, eine Eingangskapazität, die zwischen $+5\text{pF}$ und -5pF einstellbar ist, und einen Verstärkungsgrad von 1,04 bis 1,08. Die Lage des elektrischen Nullpunkts wird durch Kurzschließen des Kathodenfolgereingangs an Masse bestimmt. Die Größe des Gitterstroms, der bei Potentialmessungen an biologischen Substraten einen Wert von 10^{-10} A nicht überschreiten darf, (Burckhardt 1957) wird durch Kurzschließen des Kathodenfolgereingangs über einen Widerstand von $10^8\Omega$ an Masse

ermittelt. Ein zu hoher Gitterstrom wird mit einem Potentiometer am Kathodenstromkreis des Verstärkers auskompensiert. Der Verstärkungsgrad wird durch einen geeichten Rechteckimpuls von 100 mV_{ss} kontrolliert.

Der Elektrodenwiderstand kann an Hand des Spannungsabfalls durch Parallelschalten eines Widerstands von $10 \text{ M}\Omega$ zum Meßstromkreis ermittelt werden. Die Kompensation eines Elektrodenpotentials (tip-potential) ($1 - 5 \text{ mV}$) erfolgt mit Hilfe einer Potentiometerschaltung durch Batteriespannung.

Intrazelluläre Ableitung und Reizung über eine Elektrode erfordern eine Brückenschaltung, die von Araki und Otani (1955) und Frank und Fuortes (1956) und Ito (1957) angegeben worden ist.

In Abb. 1 ist R_2 der Elektrodenwiderstand, R_1 ein Vergleichswiderstand und gleichzeitig der Eingangswiderstand der Meßanordnung von $100 \text{ M}\Omega$, R_3 ein Widerstand von $22 \text{ k}\Omega$ mit paralleler Kapazität und R_4 ein Regelwiderstand von maximal $10 \text{ k}\Omega$. Das Ruhepotential und das Aktionspotential werden zwischen II und IV abgegriffen und über den ersten Kathodenfolger auf den ersten Strahl des Zweistrahloszillographen gegeben. Über die andere Brückendiagonale I/III wird pro Sekunde ein Rechteckreiz von 16 msec Dauer und variabler Spannung zugeführt. Die an der Mikroelektrode liegende Spannung (II/III) wird von dem zweiten Strahl des Oszillographen angezeigt, indem man die an Punkt III liegende Spannung über einen weiteren Kathodenfolger auf einen Differentialeingang des Oszillographen gibt. Bei Brückengleichgewicht kann der Elektrodenwiderstand und damit der tatsächlich durch die Elektrode fließende Strom aus dem Abgleichwiderstand R_4 errechnet werden. In der Brückenschaltung verhalten sich die Widerstände nach Abgleich der Brücke folgendermaßen:

$$\frac{R_2}{R_1} = \frac{R_4}{R_3}$$

dann gilt für R_2

$$R_2 = \frac{R_1 \cdot R_4}{R_3}$$

Der Reizstrom errechnet sich aus dem ohmschen Gesetz:

$$I_R = \frac{U_R}{R_2}$$

I_R = Reizstrom, U_R = Reizspannung.

Zur Beobachtung des Frequenzgangs und des Widerstands der Elektrode wurde ein Rechteckimpuls durch die Elektrode vor den Beginn des Reizes geleitet.

Methodik

Die Versuche wurden an ca. 250 g schweren weißen weiblichen Ratten durchgeführt. Wir haben 14 gesunde Tiere als Kontrollkollektiv, 8 nephrektomierte Ratten, 8 Ratten, bei denen die Ureteren ligiert wurden, und zwei scheinoperierte Ratten punktiert. Die Nephrektomie wurde folgendermaßen durchgeführt: Die mit Äther narkotisierte Ratte wurde an der Bauchhaut rasiert und mit Jodtinktur desinfiziert. Die Bauchhaut und die Muskulatur wurden mit einem medialen Längsschnitt durchtrennt. Um die Niere freizulegen, wurden die Gedärme vorsichtig herausgehoben und durch einen mit Ringerlösung getränkten Mulltupfer abgedeckt. Beide Nieren wurden stumpf aus dem perirenal Fettgewebe und von der Nebenniere freipräpariert, die Nierengefäße und der Ureter mit Catgut am Nierenpol abgebunden und die Niere abgeschnitten. Anschließend wurden Muskulatur und Bauchhaut durch Einzelnähte verbunden, die Naht mit Nobecutan besprüht und den Tieren intramuskulär 0,04 ml Supracillin injiziert. Die Ureterligatur wurde in ähnlicher Weise bei einer i. v. Evipannarkose durchgeführt, indem die Ureteren nach Freilegung der Niere wenig unterhalb des Harnpols durch je eine Seidenfadenligatur unterbunden wurden. Bei den ureterligierten Ratten wurde kein Nobecutan und Supracillin verwandt.

Bei der Scheinoperation wurde der Bauch eröffnet, die Gedärme beiseitegedrängt und die Ureteren freipräpariert, ohne daß eine

Unterbindung vorgenommen wurde. Die Ratten wurden im Anschluß an die Operation in Wärme bei normalem Futter und Wasser 48 - 56 Stunden am Leben erhalten. Im Unterschied zu den nephrektomierten Tieren fanden wir bei 7 von 9 ureterligierten Ratten einen Erguß im Bauchraum.

Zur Einzelfaserpunktion des isolierten Rattenzwerchfells *in vitro* wird unter leichter Äthernarkose das linke Zwerchfell nach Eröffnung des Bauches mit dem unteren Thoraxring herausgeschnitten und in eine physiologische Krebslösung gebracht.

Zur Bestimmung des Harnstoffs im Blut und des Serumkaliums wird aus dem noch schlagenden Herzen Blut entnommen. Das Zwerchfellpräparat ist annähernd dreieckig.

Es wird auf einer Seite vom unteren Rippenring begrenzt und läuft im *centrum tendineum* aus. In einer von unten beleuchteten Plexiglaskammer, deren Boden mit einer Platte aus PVC-Gummi ausgelegt ist, wird das Zwerchfell über einen ca. 0,5 cm hohen Steg unter leichter Dehnung schräg aufgespannt und mit Nadeln befestigt, so daß die Elektrode beim Punktionsvorgang unter einem sehr kleinen Winkel in die Muskelzelle einsticht. Die Kammer wird während des Versuchs ständig mit Carbogen (95%O₂, 5%CO₂) gesättigter Lösung durchspült, die aus einem Vorratsgefäß nachfließt und von einem Thermostaten aufgewärmt wird. Durch Regelung des Zuflusses wird die Lösung in der Kammer zwischen 36° und 37° C konstant gehalten. Die Temperatur kann von einem an der Kammerwand befestigten Thermometer laufend kontrolliert werden. Der Abfluß der Lösung erfolgt durch ein Überlaufrohr.

Zur Punktion und Reizung einzelner Muskelzellen, wird eine Mikroelektrode nach Ling und Gerard, die mit dem Eingang des Kathodenfolgers verbunden ist, am Arm eines Mikromanipulators gehalten und unter mikroskopischer Kontrolle an eine Stelle mit parallel ausgespannten Muskelfasern herangeführt.

Wenn die Elektrodenspitze in die Lösung eintaucht, und somit der Stromkreis geschlossen ist, werden Kontaktpotential, Frequenzgang und Widerstand der Elektrode geprüft. Es werden

nur Elektroden verwandt, die einen Frequenzgang zwischen 40 und $100/\mu$ sec und einen Widerstand von 2 bis $6 M\Omega$ haben. Die Brücke wird bei einem kleinen Rechteckimpuls abgeglichen und aus dem Potentiometerwiderstand R_4 der Elektrodenwiderstand errechnet.

Nun wird die Elektrode mit einer Mikrometerschraube tiefer gedreht, bis ein Potentialsprung auf dem Oszillographen anzeigt, daß die Elektrode intrazellulär liegt. An dem kleinen Rechteckimpuls (siehe Abb. 2) kann der Frequenzgang kontrolliert werden. Dann wird die Zelle gereizt.

Durch Erhöhung der Reizspannung bis ungefähr auf das Dreifache kann man verfolgen, wie die Zeit von Beginn des Reizes bis zum Aktionspotential (Latenzzeit) kürzer wird. Dieser Vorgang wird durch einen Lauffilm (3,06 cm/sec registriert. (s. Abb. 2)

Als Badelösung wurde die Lösung für Warmblüter nach Krebs und Henseleit (1932) verwendet.

Ihre Zusammensetzung lautet:

NaCl	0,690 g/100 cm ³
KCl	0,035 g/100 cm ³
CaCl	0,028 g/100 cm ³
MgSO ₄	0,014 g/100 cm ³
KH ₂ PO ₄	0,016 g/100 cm ³
NaHCO ₃	0,209 g/100 cm ³
Glucose	0,120 g/100 cm ³

Gasgemisch 5 % Kohlensäure, 95 % Sauerstoff

Harnstoffbestimmung nach Conway

Reagenzien:

- 1) Borsäurereagenz: 5 g Borsäure, 200 ccm In-Äthanol, 700 ccm aqua dest., 10 ccm Indikatorlösung (siehe bei 2) mit aqua dest. auf 1000 ccm auffüllen. Evtl. n/10 HCl zugeben bis zur schwachen Rosafärbung.
- 2) Indikatorlösung: 33 mg Bromkresolgrün und 66 mg Methylrot mit Äthanol (96 %, unvergällt) auf 100 ccm auffüllen.
- 3) Gesättigte K₂CO₃-Lösung

4) Phosphatpuffer: 6,8 g NaH_2PO_4 + 2 H_2O und 17,9 g Na_2HPO_4 mit aqua dest. auf 1000 ccm auffüllen. Im Eisschrank aufbewahren.

5) Ureaselösung: 500 mg Urease werden in 200 ccm Glycerin-Phosphat-Pufferlösung (4) gelöst, d. h., zu 500 mg Urease kommen 50 ccm Glycerin und etwa 50 ccm Pufferlösung (4). Etwa 1/4 Std. gut schütteln, so daß man eine gute Suspension erhält. Dann mit 50 ccm Glycerin und 50 ccm Pufferlösung auffüllen. Lösung im Eisschrank aufbewahren.

6) n/100 HCl

Ausführung:

Man verwendet eine Conwayschale mit zwei kleinen Schälchen A und B. In die kleine Schale A gibt man 0,2 ccm Blut oder Serum und 0,5 ccm Ureasepufferlösung (= Ureaselösung 5 und Pufferlösung 4 zu gleichen Teilen). In die kleine Schale B kommen 2 ccm Borsäurereagenz. Conwayschalen sofort schließen und 15 Min. bei Zimmertemperatur stehen lassen. Dann pipettiert man in die kleine Schale A 1 ccm gesättigte K_2CO_3 -Lösung und schließt die Schale schnellstens. Man läßt sie dann 105 Min. im Brutschrank bei 38°C stehen. Anschließend wird die grüngefärbte Lösung in der kleinen Schale B mit n/100 HCl bis zur Rotfärbung titriert. Als Testlösung für die Berechnung des Faktors läßt man eine 120 mg %ige Harnstofflösung mitlaufen, die genau so behandelt wird wie das Serum.

Berechnung:

Faktor = 120 : Titrationswert der Testlösung.

Titrationwert der Analyse $\times$ Faktor = mg% Harnstoff.

Auswertung

Wir haben nur Meßergebnisse von solchen Zellen verwandt, die während der Reizung ein konstantes Ruhepotential und Aktionspotential aufwiesen. An Hand der Filme wurden folgende Werte gemessen:

(Abb. 3)

1. Reizspannung

2. Latenzzeit

3. Schwellenpotential

Aus dem Widerstand der Elektrode, der bei intrazellulärer Lage gemessen wurde, haben wir die Stromstärke I , die bei Reizung der Zelle durch die Zellmembran fließt, errechnet und gegen die jeweilige Latenzzeit aufgetragen. (Abb. 4) Aus dieser Stromstärkelatenzzeitkurve (strength-latency-Kurve) haben wir den Schwellenstrom I_s (Rheobase) abgelesen. Bei 161 von 224 Messungen wurde die Schwellenstromstärke wie in Abb. 4 direkt gemessen. In den übrigen Fällen haben wir die Kurve für höhere Latenzzeiten um einen Wert von maximal 1×10^{-8} Amp. extrapoliert, um angenähert den "wahren" Schwellenwert zu ermitteln. Die Anzahl der extrapolierten Werte für I_s ist in allen von uns untersuchten Kollektiven gleich hoch.

Für die Berechnung der Zeitkonstante geht man davon aus, daß die Muskelzellmembran aus einem Kondensator und aus einem parallel geschalteten Widerstand besteht (Blair 1932). Der Gesamtstrom, der durch dieses System fließt, besteht aus einer kapazitiven und einer ohmschen Komponente.

$$I = C \frac{dV}{dt} + \frac{V}{R} \quad (1)$$

Wenn der Strom, die Kapazität und der Widerstand gleich bleiben, wird der zeitliche Verlauf der Membranpotentialänderung durch folgende e-Funktion beschrieben:

$$V = I \cdot R (1 - e^{-t/R \cdot C}) \quad (2)$$

wobei t die Latenzzeit und $R \cdot C$ die Zeitkonstante τ ist. (Tasaki 1959, Ramsey 1960) Der Membranwiderstand beträgt nach dem ohmschen Gesetz für die Schwellenwerte:

$$R = \frac{V_s}{I_s} \quad (3)$$

dann ist:

$$V_s = R \cdot I_s \quad (4)$$

Gleichung 4 in 2 ergibt:

$$R \cdot I_s = I \cdot R (1 - e^{-t/\tau}) \quad (5)$$

Ist $t = \tau$, dann ergibt sich nach Umformung der Gleichung

$$\frac{I - I_s}{I} = \frac{1}{e}$$

Trägt man $\frac{I - I_s}{I}$ logarithmisch gegen die Latenzzeit auf, so kann die Zeitkonstante τ für den Ordinatenwert $\frac{1}{e}$ auf der Abszisse abgelesen werden. (Abb. 5)

Das Schwellenpotential V_s , das sich mit einem deutlichen Knick vom steilsten Anstieg des Aktionspotentials absetzt (Schaefer 1940) konnte nicht bei allen Zellen eindeutig ausgemessen werden. Da wir das Ruhepotential infolge von Schwankungen im Brückengleichgewicht nicht als Nulllinie für V_s verwerten konnten, haben wir die Differenz vom steilsten Anstieg des Aktionspotentials bis zum tiefsten Punkt des abfallenden Schenkels gemessen. Durch diese Art der Messung ist es unvermeidbar, daß eventuell auftretende hyperpolarisierende Nachpotentiale die Werte für V_s verfälschen. Da der Reizstrom nach Repolarisation des Aktionspotentials noch einige msec durch die Membran fließt, wird diese erneut depolarisiert, und in vielen Fällen wurde sogar ein zweites Aktionspotential beobachtet. (Abb. 2) Es ist daher nicht möglich, zu entscheiden, ob eine Nachpotentialschwankung oder eine erneute Depolarisation aufgetreten ist. Wie Abb. 3 zeigt, betragen diese hyperpolarisierenden Nachpotentiale vermutlich wenige mV, die bei einer Ableseungenauigkeit von $\pm 1,5\%$ zu vernachlässigen sind. Bei den urämischen Kollektiven haben wir in Bezug auf das Normalkollektiv keine Änderung des Nachpotentials festgestellt, so daß zur Beurteilung von Relativveränderungen die Berechnung des Schwellenreizwiderstandes nach der Gleichung 3 aus Schwellenpotential und Schwellenstromstärke verwertbar ist. Es ist jedoch nicht möglich zu sagen, inwieweit der Schwellenreizwiderstand mit dem Membranwiderstand übereinstimmt. Er geht jedoch hauptsächlich in diese Größe ein.

Normalwerte:

Schwellenpotential:	$15,97 \pm 1,7 \text{ mV}$
Schwellenstromstärke:	$3,63 \pm 1,2 \cdot 10^{-8} \text{ Amp.}$
Schwellenreizwiderstand:	$0,654 \pm 0,29 \text{ M}\Omega$
Zeitkonstante:	$1,40 \pm 0,28 \text{ msec}$

Besprechung der Normalwerte:

Schwellenpotential ($15,97 \pm 1,7$ mV)

Das kritische Potential, (Ruhepotential - Schwellenpotential) das bei Depolarisation der Zelle erreicht werden muß, um ein Aktionspotential auszulösen, beträgt nach unseren Messungen im Mittelwert 47,3 mV. Dieser Befund steht in Übereinstimmung mit Ergebnissen von Jenerick und Gerard (1953) und Fatt und Katz (1951). Jenerick und Gerard haben am Skelettmuskel von Sommer- und Winterfröschen ein kritisches Potential von 52 mV bzw. 58 mV gemessen, und Fatt und Katz beobachteten am *m. sartorius* (Frosch) ein kritisches Potential von 45 mV.

Schwellenstromstärke:

($3,63 \pm 1,2 \cdot 10^{-8}$ Amp.)

Messungen der Schwellenstromstärke am isolierten Rattenzwerchfell wurden von Muscholl (1957) durch intrazelluläre Reizung mit einem anodischen Rechteckimpuls und Registrierung der Faserzuckung als Reizantwort durchgeführt. Mit dieser Methode ermittelte er einen Wert von $63 \cdot 10^{-9}$ Amp. für die dünnsten Fasern (etwa 20μ) und einen proportionalen Anstieg zur Faserdicke. (dickste Faser 70μ) Aus diesem Befund erklärt sich die verhältnismäßig hohe Streuung unserer Messungen. Während Muscholl nur über eine direkte Messung der Schwellenstromstärke verfügte, haben wir die Möglichkeit durch Aufzeichnung der Stromstärke-latenzzeitkurve unsere Ergebnisse zu überprüfen und damit solche Werte zu erkennen, die trotz erstmaligen Auftretens einer Reizantwort bereits die Schwelle überschritten haben. Somit lassen sich die niedrigeren Werte unserer Messungen erklären.

Schwellenreizwiderstand:

($0,654 \pm 0,290$ M Ω)

Jenerick (1953) hat am Frosch-sartorius mit Hilfe der Doppelpunktionsmethode (Cole und Curtis 1941) die Stromspannungskorrelation der gereizten Muskelmembran gemessen. Er fand einen Wert von $3,04 \cdot 10^5 \pm 0,55\Omega$ für den Gesamtmembranwiderstand. Dieser Befund steht - abgesehen von der verschiedenen Tierspezies - in gutem Einklang mit unseren Messungen, wenn man berücksichtigt, daß die Zelldurchmesser des untersuchten Frosch-

muskelns ungefähr doppelt so groß sind. Bekanntlich steigt der Membranwiderstand R_m umgekehrt proportional mit dem Durchmesser der Zelle. (Hodgkin und Rushton 1946, Davis und Lorente de No 1947)

Zelldurchmesser des *m. sartorius* (Frosch) bzw. des Rattenzwerchfells betragen:

$90,4 \pm 11 \mu$ (Frosch) Jenerick 1953

$15 - 70 \mu$ (Ratte) Muschohl 1957

Zeitkonstante:

$(1,40 \pm 0,28 \text{ msec})$

Unseres Wissens nach liegen keine Messungen der Zeitkonstante der Membran an Skelettmuskeln von Warmblütern vor. Im Vergleich zu Untersuchungen an Froschmuskeln, an der Herzmuskulatur von Warmblütern und an einigen corticalen Neuronen liegen die von uns gemessenen Werte erheblich niedriger.

Skelettmuskel (Frosch) $\tau = 9 \text{ msec}$ (Katz 1948)

Skelettmuskel (Frosch) $\tau = 19 \text{ msec}$ (Tasaki und Hagiwara 1957)

extensor dig. (Frosch) $\tau = 18 \text{ msec}$ (Katz 1948)

Corticale Neurone (Katze) $\tau = 8,5 \pm 2,2 \text{ msec}$ (Creutzfeld 1964)

Hypocampus Pyramidenzellen $\tau = 11,5 \pm 2,4 \text{ msec}$ (Spencer und Kandel 1961)

Vergleichbare Werte wurden mit der gleichen Methode von Frank und Fuortes (1956) an Motoneuronen der Katze gemessen:

$\tau = 1,88 \text{ msec}$. Coombs und Eccles (1959) fanden am gleichen Substrat einen Wert von etwa 1 msec .

Ergebnisse bei operierten Ratten

Die obengenannten elektrischen Eigenschaften der Zelle wurden bei jeweils 8 nephrektomierten und ureterligierten Ratten gemessen. Um Änderungen auszuschließen, die durch den operativen Eingriff bedingt sein können, haben wir zwei scheinoperierte Ratten untersucht. Es wurden keine signifikanten Abweichungen von den Normalwerten festgestellt. (Siehe Tabellen)

Nephrektomierte Ratten

Schwellenpotential:	17,3	$\pm 1,5$ mV
Schwellenstromstärke:	2,52	$\cdot 10^{-8} \pm 0,57$ Amp.
Schwellenreizwiderstand:	0,925	$\pm 0,21 \cdot 10^6 \Omega$
Zeitkonstante:	1,76	$\pm 0,4$ msec

Ureterligierte Ratten

Schwellenpotential:	17,3	$\pm 2,1$ mV
Schwellenstromstärke:	3,72	$\cdot 10^{-8} \pm 1,2$ Amp.
Schwellenreizwiderstand:	0,625	$\pm 0,22 \cdot 10^6 \Omega$
Zeitkonstante:	1,71	$\pm 0,4$ msec

Das Schwellenpotential von ureterligierten und nephrektomierten Ratten ist statistisch vom Normalkollektiv nicht unterscheidbar. Dagegen ist die Schwellenstromstärke (nephrektomiert) signifikant $p < 0,01 > 0,001$ gegenüber normal vermindert, während die Schwellenstromstärke (ureterligiert) sich statistisch nicht gegenüber dem Normalkollektiv geändert hat. Demzufolge zeigt auch der Schwellenreizwiderstand der ureterligierten Ratten keine Abweichung von den Normalwerten, während der Schwellenreizwiderstand der nephrektomierten Ratten signifikant erhöht ist. $p < 0,05 > 0,02$ Die Zeitkonstante ist sowohl bei den nephrektomierten Ratten als auch bei den ureterligierten Tieren um den gleichen Betrag signifikant gegenüber den Normalwerten angestiegen. $p < 0,01 > 0,001$

Im Kollektiv der ureterligierten Ratten wurde ein Versuch (6) nicht im Mittelwert mitberücksichtigt, da die Zeitkonstante und die Reizschwelle aus ungeklärten Gründen weit vom Mittelwert abweichen.

Besprechung der Ergebnisse

Änderungen der elektrischen Eigenschaften der Muskelzellmembran, die bei Niereninsuffizienz auftreten, wurden in vorliegenden Versuchen an Ratten in vitro unabhängig von extrazellulären Elektrolytveränderungen untersucht. Die ermittelten Resultate zeigen, daß Nephrektomie und Ureterligatur nicht die gleichen Veränderungen der Membrankonstanten verursachen. Während bei

nephrektomierten Ratten die Reizschwelle erniedrigt und der Schwellenreizwiderstand und damit auch der Membranwiderstand, der hauptsächlich in diese Größe eingeht, gegenüber Normalwerten angestiegen ist, zeigen sich bei der Ureterligatur keine Abweichungen von der Norm.

Die Zeitkonstante der Membran ist bei beiden Kollektiven signifikant erhöht. Aus der Definition der Zeitkonstanten als Produkt aus Membranwiderstand und Membrankapazität ergibt sich eine unterschiedliche Erklärung dieses Anstiegs. Jedoch können wir in jedem Fall nur theoretische Überlegungen anstellen, da wir über keine Messungen der Membrankapazität verfügen. Die Versuchsergebnisse weisen darauf hin, daß bei Nephrektomie der Anstieg der Zeitkonstanten durch den erhöhten Membranwiderstand bedingt ist, daß dagegen bei Ureterligatur bei konstantem Membranwiderstand eine erhöhte Membrankapazität für den Anstieg der Zeitkonstanten verantwortlich ist. Jenerick (1953) und Jenerick und Gerard (1953) haben am Froschmuskel in vitro elektrische Eigenschaften der Zellmembran in Abhängigkeit von der extrazellulären Kaliumkonzentration gemessen. Die Untersucher machten folgende Feststellungen: durch Erhöhung der äußeren Kaliumkonzentration und damit einer Verminderung der intra-extrazellulären Kaliumdifferenz wurde das Membranpotential gesenkt. In Abhängigkeit davon fanden sie ein proportionales Absinken der Reizschwelle (Jenerick und Gerard 1953) und des Logarithmus des Membranwiderstandes (Jenerick 1953).

Vorliegende Untersuchungen wurden bei einer konstanten extrazellulären Kaliumkonzentration von 5,9 mval/l in der Badelösung durchgeführt. Dagegen verfügen wir über keine Angaben der intrazellulären Kaliumkonzentrationswerte.

Wie eingangs erwähnt, wiesen Giebisch, Berger und Pitts (1955) an nephrektomierten Hunden eine Verschiebung von Natrium und Kalium aus dem gesamten Zellraum in die Extrazellulärflüssigkeit in proportionaler Abhängigkeit von der extrazellulären Wasserstoffionenkonzentration nach. Nicht in Übereinstimmung damit stehen die Befunde von Gessler und Caliebe (1961), die bei nephrektomierten Ratten eine Zunahme der intrazellulären Kaliumkonzentration von 169 mval/l auf 184 mval/l fanden.

Weder ein Anstieg noch ein Abfall der intrazellulären Kaliumkonzentration können die von uns ermittelten Ergebnisse in allen Veränderungen der elektrischen Eigenschaften erklären. Bei Reduktion der intrazellulären Kaliumkonzentration und somit einer erniedrigten intra-extrazellulären Kaliumdifferenz müßte entsprechend den Untersuchungen von Jenerick (1953) und Jenerick und Gerard (1953) sowohl der Membranwiderstand als auch die Reizschwelle abfallen. Bei Anstieg der intrazellulären Kaliumkonzentration und entsprechendem Anstieg der intra-extrazellulären Kaliumdifferenz ist dagegen zu erwarten, daß beide Werte erhöht sind.

Ebenfalls ungeklärt bleiben die Änderungen von Membranpotential und Membranwiderstand in entgegengesetzter Richtung, wenn man versucht, sie als Faktoren der veränderten intra-extrazellulären Kaliumkonzentrationsgradienten zu erklären. Es ist vielmehr anzunehmen, daß die vorgefundenen Abweichungen der Membraneigenschaften vom normalen Verhalten unabhängig von Elektrolytkonzentrationsveränderungen auftreten. Dies wird durch die Ergebnisse von Haugg (1964) unterstützt, der bei in vitro Versuchen in einer physiologischen Badelösung an der Zwerchfellmuskelszelle von ureterligierten Ratten eine Verminderung des Ruhepotentials von 11 mV fand (normal: 79,8 mV, ureterligiert 68,8 mV). Dies entspricht, wie eingangs erwähnt, einem Wert, der bei in vivo Messungen von normalen und ureterligierten Ratten nicht durch den Abfall der intra-extrazellulären Kaliumdifferenz erklärbar ist.

Ähnliche Veränderungen der elektrischen Eigenschaften der Membran, wie wir sie bei der experimentellen Niereninsuffizienz beobachtet haben, wurden von anderen Untersuchern bei Denervation und Unterkühlung gefunden.

Nach Denervation nimmt der Membranwiderstand zu und die Kaliumpermeabilität ab. (Harris und Nicolls 1953) (Frosch), Klaus, Lüllmann und Muscholl 1960 (Rattenzwerchfell). Die Rheobase ist auf ein Fünftel des Normalwertes verringert (Pollock et al. 1946). Das Ruhepotential nimmt ebenfalls in Abhängigkeit von der Denervationsdauer ab. Nach 18 Tagen Denervation ist

das Membranpotential von einem Normalwert von 88 mV auf 75 mV abgesunken (Lüllmann 1958).

Bei Unterkühlung zeigen sich die gleichen Änderungen.

Das Ruhepotential, (Jenerick und Gerard (1953) die Kaliumpermeabilität (Hodgkin 1948) und die Reizschwelle (Hou 1930) werden kleiner. Der Membranwiderstand und davon abhängig die Zeitkonstante (Schaefer 1942) steigen an.

Es zeigt sich also, daß eine gewisse Gesetzmäßigkeit besteht, wie sich die Membraneigenschaften in bestimmten pathologischen Zuständen verändern.

Da der Membranwiderstand der Leitfähigkeit oder der Permeabilität der Membran umgekehrt proportional ist, weisen unsere Ergebnisse darauf hin, daß bei nephrektomierten Ratten wie bei der Denervation und der Unterkühlung des Muskels die Permeabilität der Membran verringert ist. Es bliebe in weiteren Untersuchungen zu klären, wie sich die Durchlässigkeit der Zellmembran für die verschiedenen in Frage kommenden Ionen ändert.

In Zusammenhang mit Ruhepotentialmessungen an unterkühlten Ratten haben wir bei Zellreizung die obengenannten Veränderungen bestätigt gefunden. Dies ist jedoch zunächst ein Einzelbefund und muß in weiteren Versuchen genauer überprüft werden.

Ca. 250 g schwere weiße Ratten wurden bei tiefer Äthernarkose und künstlicher Sauerstoff-Luftbeatmung im Eiswasser auf 0° C Rectal- und Organtemperatur ausgekühlt.
(Reulen et al. 1964)

Das Zwerchfell wurde wie in vorliegenden Versuchen der Ratte entnommen und wurde in eine auf 2,5° C abgekühlte Badelösung gebracht. Nach schrittweiser einstündiger Erwärmung der Spüllösung wurden Muskelzellen bei 26°, 28,5° und 30° gereizt.

Folgende Werte wurden ermittelt:

Schwellenreizwiderstand:	$2,55 \cdot 10^6 \pm 2 \Omega$
Schwellenstromstärke:	$1,4 \pm 1,3 \cdot 10^{-8} \text{ Amp.}$
Zeitkonstante:	$3,03 \pm 1,3 \text{ msec}$

Zusammenfassung

Am isolierten Rattenzwerchfell wurden mit Hilfe von Mikroelektroden elektrische Eigenschaften der Zellmembran von einzelnen quergestreiften Muskelzellen bestimmt.

Die Reizschwelle betrug $3,63 \pm 1,2 \cdot 10^{-8}$ Amp.

Der Schwellenreizwiderstand wurde aus der Reizschwelle und dem Schwellenpotential errechnet. Er betrug $0,654 \pm 0,29 \cdot 10^6 \Omega$. Für die Zeitkonstante wurde ein Wert von $1,40 \pm 0,3$ msec ermittelt.

Bei 8 Ratten wurde eine experimentelle Niereninsuffizienz durch operative Nephrektomie erzeugt. Es wurde ein signifikanter Anstieg des Schwellenreizwiderstandes auf $0,925 \pm 0,21 \cdot 10^6 \Omega$ ermittelt. Die Zeitkonstante ist ebenfalls signifikant auf einen Wert von $1,76 \pm 0,41$ msec angestiegen. Die Reizschwelle war signifikant auf einen Wert von $2,5 \pm 0,6 \cdot 10^{-8}$ Amp. erniedrigt.

Bei experimenteller Niereninsuffizienz durch Ureterligatur (7 Ratten) haben wir einen signifikanten Anstieg der Zeitkonstanten auf $1,71 \pm 0,4$ msec beobachtet. Der Membranwiderstand und die Reizschwelle waren statistisch vom Normalkollektiv nicht unterscheidbar.

Gesunde Ratten

Datum	Harnstoff mg %	K_a mval/l	V_s mV	I_s 10^{-8} Amp.	$\frac{V_s}{I_s}$ $M\Omega$	τ msec	Zahl der Zellen
7.8.64			18	3.76	0.692	1.57	4
8.8.64			18.8	5.68	0.333	1.57	4
13.8.64			14	3.96	0.354	1.18	1
15.8.64			15.5	5.4	0.896	1.65	5
18.8.64			17.3	2.65	0.747	1.48	4
9.9.64			13.0	4.05	0.747	1.10	2
10.9.64			15.6	3.58	0.547	1.12	5
17.9.64			16.0	1.60	1.338	1.50	3
28.9.64			18	2.02	0.692	1.90	6
30.9.64			16.8	4.08	0.319	1.40	5
1.10.64			15.7	3.34	0.682	1.14	12
7.11.64	61.8		14.0	4.93	0.293	1.31	7
8.11.64	51.2	4.0	14.5	2.65	0.934	1.71	4
27.11.64	50.7	4.85	16.4	3.06	0.577	1.02	6

W

15.97 3.63 0.654 1.40

$\pm 1.7 \pm 1.2 \pm 0.286 \pm 0.28$

Nephrektomierte Ratten

Nr.	Datum	Harnstoff mg %	K_a mval/l	V_s mV	I_s 10^{-8} Amp.	$\frac{V_s}{I_s}$ $M\Omega$	τ msec	Zahl der Zellen
1	5.11.64	556		16.9	1.70	0.986	1.87	12
2	6.11.64	472	8.7	17.1	2.28	1.352	2.24	10
3	7.11.64	416	9.5	20	3.18	1.084	1.68	6
4	8.11.64	504		17.0	2.84	0.829	1.96	7
5	11.11.64	618	6.4	17.0	2.83	0.717	1.13	6
6	11.11.64	324.9	6.2	15.0	3.08	0.705	1.65	6
7	12.11.64	453		16.7	2.51	0.834	2.27	7
8	12.11.64	410	7.85	18.7	1.75	0.889	1.25	2
MW		469.2	7.73	17.3	2.52	0.925	1.76	
				± 1.5	± 0.57	± 0.213	± 0.41	

<i>MW</i>	588.8	7.54	17.3	3.72	0.625	1.71
			+ 2.1	+ 1.2	+ 0.224	+ 0.37

$$\pm 2.1 \pm 1.2 \quad \pm 0.224 \pm 0.37$$

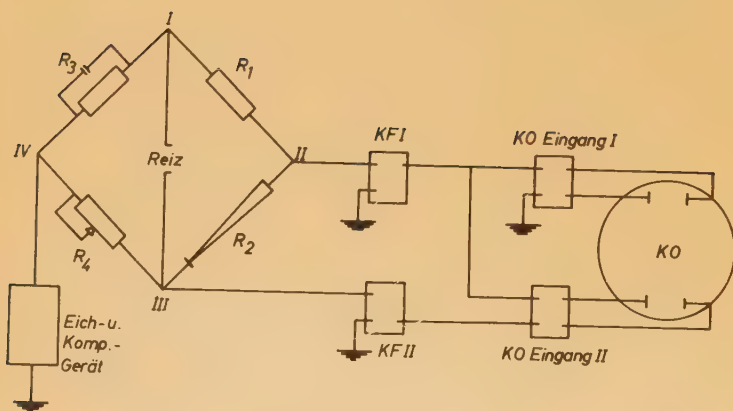


Abb. 1

Brückenschaltung unserer Meßanordnung

R_2 = Elektrodenwiderstand

R_1 = Vergleichswiderstand von $100\text{ M}\Omega$

R_3 = Widerstand von $22\text{ k}\Omega$ mit paralleler Kapazität

R_4 = Regelwiderstand von maximal $10\text{ k}\Omega$

KF = Kathodenfolger

KO = Kathodenstrahlloszillograph

Abb. 2

Meßserie an einer Zelle
einer normalen Ratte.

Die Geschwindigkeit
des Lauffilms betrug
3,06 cm/sec.



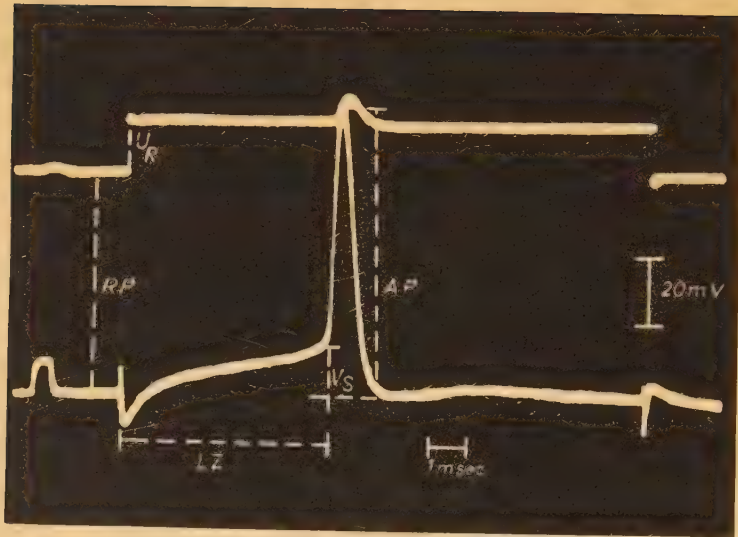


Abb. 3

Originalbild eines Aktionspotentials von
einer normalen Ratte

U_R = Reizspannung

RP = Ruhepotential

AP = Aktionspotential

V_S = Schwellenpotential

LZ = Latenzzeit

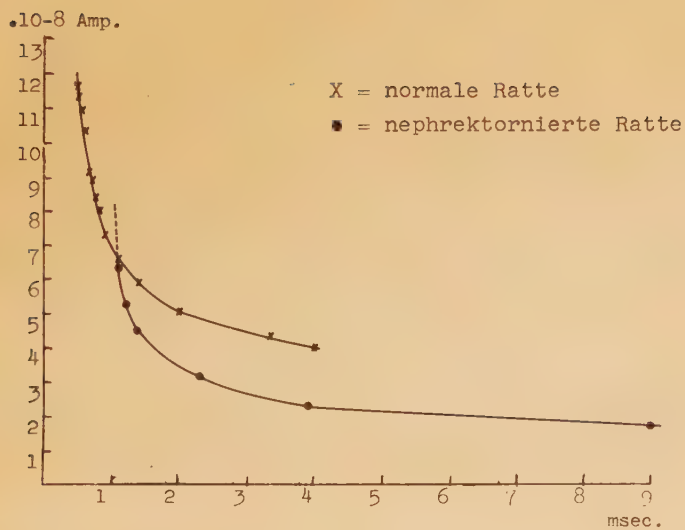


Abb. 4

Stromstärkelatenzzeitkurven einzelner Zellen
von einer normalen und einer nephrektomierten Ratte.

Ordinate: Reizstromstärke

Abszisse: Latenzzeit

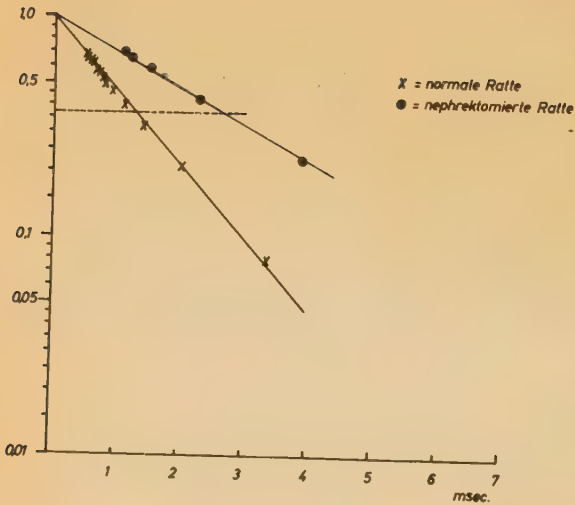


Abb. 5

Zur Bestimmung der Zeitkonstanten der Membran wurden die Meßergebnisse derselben Zellen wie in Abb. 4 verwandt.

Ordinate: $\frac{I - I_S}{I}$

Abszisse: Latenzzeiten

wurde bei dem Ordinatenwert $\frac{1}{e}$ (gestrichelte Linie) auf der Abszisse abgelesen.

Literaturverzeichnis

- ARAKI, T. und T. Otani: Response of single motoneurons to direct stimulation in toad's spinal cord. *J. Neurophysiol.* 18, 472 - 485 (1955)
- BLAIR, H.A.: On the intensity-time relations for stimulation by electric currents. *J. gen. Physiol.* 15, 709 - 729 (1932)
- BOLTE, H.D., G. Riecker und D. Röhl: Messungen des Membranpotentials an einzelnen quergestreiften Muskelzellen des Menschen in situ. *Kli.Wo.* 41, 356 (1963)
- BURCKHARDT, D.: Die Übertragereigenschaften elektrophysiologischer Versuchsanordnungen. *Z. Biol.* 109, 297 - 324 (1957)
- COLE, K.S. and H. Curtis: Membrane potential of the squid giant axon during current flow. *J. gen. physiol.* 24, 551 - 563 (1941)
- COOMBS, J.S., D.R. Curtis and J.C. Eccles: The electrical Constants of the motoneurone membrane. *J. Physiol. (Lond)* 145, 505 - 528 (1959)
- CREUTZFELD, O.D., H.D. Lux und A.C. Nacimiento: Intrazelluläre Reizung corticaler Nervenzellen. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 281, 129 - 151 (1964)
- DAVIS, L. jr. and R. Lorente de No: Contribution to the mathematical theory of the electrotonus. In R. Lorente de No. A study of nerve. *Physiol. Stud. Rockefeller Inst. med. Res.* 131, 442 (1947)
- FATT, P. and B. Katz: An analysis of the end-plate potential recorded with intracellular microelectrodes. *J. Physiol.* 115, 320 (1951)
- FRANK, K. and M.G.F. Fuortes: Stimulation of spinal motoneurons with intracellular electrodes. *J. Physiol. (Lond)* 134, 451 - 470 (1956)
- GESSLER, M. und W. Caliebe: Mineralhaushaltsstörungen bei der experimentellen Sublimatvergiftung. III. Doppelseitige Nephrektomie mit und ohne Sublimatvergiftung. *Z. exp. Med.* 134, 139 (1961)
- GIEBISCH, G., L. Berger und R.F. Pitts: The extrarenal response to acute acid-base disturbance of respiratory origin. *J. clin. Invest.* 33, 231 (1955)

- GOLDMAN, D.E.: Potential, impedance and rectification in membranes. *J. gen. Physiol.* 27, 37 (1943)
- HARRIS, E.J. and J.G. Nicholls: An effect of denervation on the rate of entry of potassium into frog muscle. *J. Physiol. (Lond)* 123, 23 P (1953)
- HAUGG, A.: Messungen des Membranpotentials einzelner Skelettmuskelzellen bei experimenteller Niereninsuffizienz sowie unter dem Einfluß path. Kreatinin-Milchsäure-Calcium- und Magnesiumkonzentrationen. Inaug. Diss. München (1964)
- HODGKIN, A.L.: The effect of temperature on the electrical activity of the giant axon of the squid. *J. Physiol. (Lond)* 109, 240 - 249 (1948)
- HODGKIN, A.L.: The ionic basis of electrical activity in nerve and muscle. *Biol. Rev.* 26, 339 (1951)
- HODGKIN, A.L. and P. Horowitz: The influence of potassium and chloride ions on the membrane potential of single muscle fibres. *J. Physiol. (Lond)* 148, 127 (1959)
- HODGKIN, A.L. and B. Katz: The effect of sodium on the electrical activity of the giant axon of the squid. *J. Physiol.* 108, 37 (1949)
- HODGKIN, A.L. and W.A.H. Rushton: The electrical constants of a crustacean nerve fibre. *Proc. roy. Soc. B.* 133, 444 (1946)
- HOU, C.L.: Über die Veränderungen der Reizzeitspannungskurve durch Narkose, Kälte und Veratrin. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 226, 676 - 688 (1930)
- ITO, M.: The electrical activity of spinal ganglion cells investigated with intracellular microelectrodes. *Jap. J. Physiol.* 7, 297 - 323 (1957)
- JENERICK, H.P.: Muscle membrane potential, Resistance and external potassium chloride. *Cell. and Comp. Plup.* 42, 338 - 448 (1953)
- JENERICK, H.P. and R.W. Gerard: Membrane potential and threshold of single muscle fibres. *J. Cell. and Comp. Physiol.* 42, 79 - 102 (1953)
- KATZ, B.: The electrical properties of the muscle fibre membrane. *Proc. roy. Soc. B.* 133, 444 (1948)

- KLAUS, W.H., Lüllmann and E. Muscholl: Der Kalium-Flux des normalen und denervierten Rattenzwerchfells. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 271, 761-775 (1960)
- KOCH, F.G.: Die Wirkung von Nebennierenrindenhormonen auf das Membranpotential von Muskelzellen (Messungen im isolierten Rattenzwerchfell) *Inaug. Diss. München* (1964)
- KREBS, H.A. und K. Henseleit: Untersuchungen über die Harnstoffbildung im Tierkörper. *Z. Physiol. Chem.* 210, 33 (1932)
- LING, G. and R.W. Gerard: The normal membrane potential of frog sartorius fibres. *J. Cell. Comp. Physiol.* 34, 383 - 396 (1949)
- LÜLLMANN, H.: Über die Konstanz des Membranpotentials bei spontanen Änderungen des Ionengradienten am normalen und denervierten Rattenzwerchfell. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 267, 188 - 199 (1958)
- MUSCHOLL, E.: Elektrophysiologische Untersuchungen der einzelnen Faseranteile des isolierten Rattenzwerchfells. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 264, 467-483 (1957)
- POLLOCK, L., J.G. Gollseta and A.J. Arieff: The response of muscle to electrical stimuli during degeneration, denervation and regeneration. *Res. Publ. Ass. nerv. ment. Dis.* 25, 236 (1946)
- RAMSEY, R.W.: Some Aspects of the Biophysics of Muscle, aus *Structure and Function of Muscle*, Vol. II edit. by G.H. Bourne *Academic Press New York and Lond.* (1960)
- REULEN, H.-J., P. Aigner, K. Messmer und W. Brendel: Intra- und extracelluläre Elektrolytveränderungen während Hypothermie bis 0° C und Wiedererwärmung. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 281, (1964)
- RIECKER, G.: Kationenverteilung an Erythrocyten bei Acidose. *KliWo.* 41, 184 (1963)
- RIECKER, G., H.D. Bolte und M.v.Bubnoff: Ein Verfahren zur Messung von Einzelfaser-Potentialen menschlicher Muskelzellen in situ. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 277, 231-235 (1963)
- RIECKER, G. und M.v.Bubnoff: Über den intrazellulären Wasser- und Elektrolytstoffwechsel. (Untersuchungen an Erythrocyten) *KliWo.* 37, 18 - 23 (1959)

Lebenslauf

Ich wurde am 2. Mai 1941 in Wien als Tochter des Universitätsdozenten Dr. Franz Ronneberger und seiner Ehefrau, Ellen, geb. Staschen geboren. Nach dem Kriege siedelten meine Eltern nach Gelsenkirchen über, wo ich nach vierjährigem Volksschulbesuch 1951 in die Annette von Droste Hülshoff-Schule, ein neusprachliches Mädchengymnasium eintrat und 1960 dort die Reifeprüfung ablegte. Das Studium der Medizin begann ich im Sommersemester 1960 in Göttingen; die naturwissenschaftliche Vorprüfung bestand ich 1961, die ärztliche Vorprüfung 1962 in Göttingen. Mein erstes klinisches Semester studierte ich in Münster, danach setzte ich das Studium bis zum Ende in München fort. Anfang 1966 meldete ich mich zum medizinischen Staatsexamen, das ich im Juni desselben Jahres bestanden habe.

